

This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problems Mailbox.**

This Page Blank (uspto)

Téléfax

No. réf:

Ferring AB, Dr J. Frøberg
Cyto REP, Dr P. Orsolini

ate April 16 1991

iges 12

Remarques:

KOPIA TILL
FVD, MSD, LA

D2

SVERIGE

(19) SE



PATENTVERKET

(45) PATENT MEDDELAT 1991-01-10
(12) UTLÄGGNINGSSKRIFT

[B] (11)

462 780

(51) Internationell klass⁵

A61K 9/50

B01J 13/02

(44) Ansökan utlagd och utläggningskriterien publicerad

90-09-03

(41) Ansökan allmänt tillgänglig

86-04-18

(22) Patentansökan inkom

85-10-16

(24) Löpdag

85-10-16

(62) Stamansökans nummer

(86) Internationell ingivningsdag

(88) Ingivningsdag för ansökan om europeiskt patent

(30) Prioritetsuppgifter

84-10-17 CH 4979/84

(21) Patentansökningsnummer

8504835-3

Ansökan inkommen som:



svensk patentansökan



fullständig internationell patentansökan med nummer



omvandlad europeisk patentansökan med nummer

(71) SÖKANDE

Debiopharm SA Lausanne CH

(72) UPPFINNARE

1) P Orsolino, 2) R-Y Mauvernay, 3) R Deghenghi, 1) Martigny, 2, 3) Lausanne

(74) OMBUD

Branas

(54) BENÄMNING

Metod för mikroinkapsling genom fassseparation av vattenlösliga läkemedel

(56) ANFÖRDA PUBLIKATIONER: US A 4 166 800 (252-316), EP A 0 052 510 (A61K 9/50)

(57) SAMMANDRAG:

Föreliggande uppfinning avser mikroinkapsling av vattenlösliga läkemedelssubstanser genom fassseparation. Operationerna under härdningssteget äger rum vid en temperatur mellan ca. 0°C och ca. 25°C och det använda icke-lösningsmedlet under detta steg är ett alifatiskt fluorerat eller fluorohalogenerat kolväte eller en blandning av sådana kolväten. Vidare användes icke-lösningsmedlet i ett överskott i förhållande till volymen lösningsmedel och icke-lösningsmedel från fassseparationssteget.

Syntex: FFA

Liquid
Soluble in all the heptane soluble Syntex

462 780

Metod för mikroinkapsling genom fasseparation av vattenlösliga läkemedel.

Mikroinkapsling av läkemedelssubstanser är en etablerad teknik, som framförallt medger skydd och kontrollerad administration av läkemedelssubstanser med kort halveringstid in vivo. Den resulterande galeniska formen har oftast formen av en injicerbar suspension med mycket hög effektivitet.

Olika metoder för genomförande av mikroinkapslingen beskrives i litteraturen (se exempelvis patentansökan EP nr 0052510). En av de mest använda metoderna för mikroinkapsling genom fasseparation kan beskrivas på följande sätt:

- a) en bioförläpbar polymer löses först i ett organiskt lösningsmedel som inte är blandbart med vatten (exempelvis CH_2Cl_2);
- b) en vattenlösning av den valda läkemedelssubstansen dispergeras sedan i den ovannämnda organiska lösningen;
- c) nämnda icke-förläpbara polymer, såsom en silikonolja, införes sedan under omröring i den dispersion som erhållits på i b) beskrivet sätt och förorsakar att embryon till mikro-kapslar bildas genom avsättning av den inledningsvis upplösta polymeren på den dispergerade läkemedelssubstansen;
- d) den i c) erhållna blandningen hålles sedan i ett överskott av ett organiskt lösningsmedel som inte är blandbart med vat-

ten och icke-lösningsmedel för den avsatta polymeren, såsom exempelvis heptan, och förorsakar sålunda härdning av mikrokapslarna genom extraktion av det ursprungliga organiska lösningsmedlet (exempelvis CH_2Cl_2), som fortfarande ingår i massan av den avsatta polymeren;

e) de sålunda härdade mikrokapslarna filtreras sedan, tvättas och torkas eller till och med steriliseras enligt vanliga tekniker.

De analyser som genomfördes visade att mikrokapslarna torkade till konstant vikt och fortfarande innehöll en hög viktdel av icke önskvärda organiska föreningar, såsom den heptan som användes under steg d) ovan. I ett antal fall var mängden resterande organiskt lösningsmedel i själva verket ekvivalent med eller till och med större än mängden mikroinkapslad aktiv huvudbeståndsdel (läkemedelssubstans), vilket starkt äventyrade varje farmaceutisk användning av sådana preparat.

Oberoende av det föregående har det visat sig att aggregat av mikrokapslar ofta erhöles vid fasseparationssteget samt under härdningen av mikrokapslarna, vilket resulterade i viktiga sänkningar av utbytet eller till och med i avvisning av vissa satser, som hade blivit oanvändbara på det här sättet.

Enligt US patentet nr 4 166 800 kan förekomsten av ett sådant fenomen förhindras genom arbete vid temperaturer mellan -100 och -40°C under fasseparationssteget samt under härdningen genom tillsättning av ett icke-lösningsmedel för polymeren. Heptan anges som ett lämpligt icke-lösningsmedel för härdningen.

Att industriellt genomföra operationer vid så låga temperaturer är dyrbart och en källa till komplikationer. Vidare medför användningen av organiska lösningsmedel, såsom exempelvis heptan, i industriell skala en stor olägenhet på grund av emissionen av stora mängder antändbara eller till och med

462 780

3

toxiska ångor.

De i det föregående angivna svårigheterna kan med fördel lösas enligt föreliggande uppfinning. Det har i själva verket oväntat visat sig att man genom att arbeta vid en temperatur mellan ca. 0 och ca. 25°C under härdningen av mikrokapslarna och genom att som ett icke-lösningsmedel under härdningssteget använda ett fluorerat eller ett fluorohalogenerat kolväte eller en blandning av sådana kolväten i ett överskott i förhållande till den totala volymen lösningsmedel och icke-lösningsmedel, som kommer från fasseparationssteget, med framgång kan utesluta bildning av aggregat. Det visade sig vidare att de sålunda erhållna mikrokapslarna endast innehöll en mycket liten rest av icke önskvärda organiska föreningar eller åtminstone en rest, som var fullkomligt godtagbar för terapeutisk administration av nämnda mikrokapslar.

Förutom egenskapen att lätt kunna elimineras under de vanliga torkningsoperationerna presenterade nämnda kolväten vidare fördelen att vara icke-toxiska och icke-antändbara och således lämpliga för användning i industriell skala.

Beroende på det enskilda fallet kan en minskning av nivån av resterande icke-lösningsmedel i de enligt uppfinningen erhållna mikrokapslarna från 10 till 1 eller ännu mindre uppnås.

De med förfarandet enligt uppfinningen erhållna mikrokapslarna är vidare avsevärt stabilare än de som erhålles enligt vanliga metoder. Man iakttog speciellt att beläggningsskiktet av polymeren var betydligt mindre benäget för försämring, exempelvis genom hydrolys, under åldringstester.

Med ordet "icke-lösningsmedel" ovan avses i själva verket en vätskeformig organisk förening, som inte är blandbar med vatten och som inte förorsakar någon upplösning av den polymer som utgör den väsentliga massan i mikrokapslarna. När det

sättes till en vattenhaltig organisk suspension av embryon till mikrokapslar (steg c) ovan) förorsakar det härdning av de sistnämnda genom extrahering av det organiska lösningsmedel som inledningsvis ingick i polymerens massa, exempelvis CH_2Cl_2 .

Förfarandet enligt föreliggande uppfinning har visat sig vara lämpligt för mikroinkapsling av en avsevärd mängd olika vattenlösliga läkemedelssubstanser. Som icke-begränsande exempel på läkemedelssubstanser må nämnas vattenlösliga polypeptider, såsom det hormon som åstadkommer frigöring av luteiniseringshormonet och av det follikelstimulerande hormonet (LH-RH) eller någon av dess syntetiska analoger (beträffande detta ämne se det schweiziska patentet nr 615 662), somatostatin eller någon av dess syntetiska analoger, humant eller animaliskt kalcitonin, humant eller animaliskt tillväxthormon, hormon som åstadkommer frigöring av tillväxthormonet, en kardiopeptid, såsom ANP (human 1-28) eller ett interferon, naturligt eller rekombinerat.

Allmänt gäller att de läkemedelssubstanser som med fördel kan mikroinkapslas genom användning av metoden enligt uppfinningen kan väljas bland substanser med antiinflammatorisk, tumörhämmande, immunodepressiv, blodproppsförhindrande, neuroleptisk, antidepressiv eller antihypertensiv effekt eller bland de icke-toxiska vattenlösliga salterna av sådana substanser.

Som ett exempel på ett icke-lösningsmedel i den betydelse denna term har enligt föreliggande uppfinning kan man med fördel använda de fluorerade eller fluorohalogenerade alifatiska kolväten som säljes kommersiellt, t.ex. de som säljes under handelsnamnet FREON. Nämnade kolväten väljes företrädesvis bland dem som föreligger i flytande form vid atmosfärstryck och vid en temperatur mellan ca. 0 och ca. 25°C. Särskilt intressanta resultat iakttogs när triklorfluorometan, 1,1,2-triklorotrifluoroetan eller 1,3-diklorotetrafluoroetan användes. Denna uppräknings är emellertid inte

462 780

5

fullständig.

Enligt uppfinningen användes nämnda icke-lösningsmedel i ett överskott i förhållande till den totala volymen av lösningsmedel och icke-lösningsmedel som kommer från fasseparationssteget. Det är lämpligt att använda ett överskott av minst 5 : 1 eller till och med 10 : 1, beroende på det enskilda fallet. Bildningen av aggregat undvikas sålunda med framgång.

Metoden enligt uppfinningen tillämpas med framgång vid framställning av mikrokapslar baserade på en mångfald bioförlikbara polymerer. Som exempel på sådana polymerer må nämnas polymererna av L-laktid, D,L-laktid eller sampolymerisat av D,L-laktid och glykolid.

Exemplen åskådliggör uppfinningen mer detaljerat utan att begränsa dess omfattning.

Exempel 1

Överdragning av placebo genom mikroinkapsling

- A. 1,0 g av ett sampolymerisat av D,L-laktid och glykolid ca. 50 : 50 (medelmolekylvikt 53 000) löstes först vid 25°C i 50 g metylenklorid och placerades i ett reaktionskärn som var försett med en omröringsturbin. Därefter sattes 300 µl vatten fortlöpande till den organiska blandningen. Under denna tillsättning upprätthölls omröringen vid ca. 2000 varv/min. 30 ml silikonolja (Dow Corning Fluid 200) infördes sedan vid 25°C i reaktionsblandningen med en hastighet av ca. 2 ml/min och under omröring. När tillsättningen av silikonolja var avslutad, hällades blandningen, som innehöll embryon till mikrokapslar, vid 25°C i 2,2,1,1,2-triklorotrifluoroetan så att de kunde hårdna och omrördes 30 minuter vid ca. 800 varv/min. Efter filtrering torkades den erhållna produkten under sänkt tryck 24 timmar. Den sålunda erhållna produkten isolerades i ett

utbyte av 76 % (av det teoretiska).

- B. De ovanstående operationerna upprepades vid praktiskt taget identiska betingelser, varvid 1,1,2-triklorotri-fluoroetan ersattes med en identisk mängd trikloro-fluorometan, och härdningen genomfördes vid 15°C.
- C. Som jämförelse upprepades de ovannämnda operationerna och därvid var det under härdningssteget använda icke-lösningsmedlet heptan.

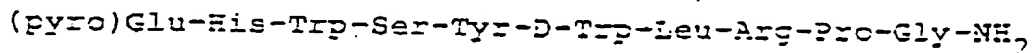
Vart och ett av de sålunda framställda proverna torkades sedan under vakuum under en förlängd period till dess att konstant vikt uppnåddes. De erhållna resultaten anges nedan:

<u>Prov</u>	<u>Viktförlust</u>	<u>Resterande lösningsmedel</u>
A	3 %	5 % (1,1,2-trikloro-trifluoroetan)
B	15 %	0,5 % (triklorofluorometan)
C	5 %	8 % (heptan)

Exempel 2

Överdragning av en decapeptid genom mikroinkapsling

Mikroinkapslingsoperationerna som leder till framställningen av en farmakologiskt aktiv överdragen förening genomfördes med föreningen med formeln



(förening A).

Den här föreningen hade erhållits enligt den metod som exempelvis beskrives i det schweiziska patentet nr 615 662; den hade en polypeptidhalt av ca. 80 viktprocent. 1,0 g sampoly-

merisat av D,L-laktid och glykolid ca. 50 : 50 (genomsnittlig molekylvikt ca. 53 000) löstes först vid 25°C i 50 g metylenklorid och placerades i ett reaktionskärl som var försett med en omröringsturbin. En lösning av 30,4 mg av förening A i 300 µl sterilt vatten framställdes separat och sedan sattes denna lösning fortlöpande till den organiska blandningen. Under denna tillsättning omrördes blandningen med en hastighet av ca. 2000 varv/min. 30 ml silikonolja (Dow Corning Fluid 200) infördes sedan vid 25°C i reaktionsblandningen med en hastighet av ca. 2 ml/min och under omröring. När tillsättningen av silikonoljan var avslutad, hölls blandningen, som innehöll embryon till mikrokapslar, vid 15°C i 2 l triklorofluorometan, så att de skulle få möjlighet att hårdna, och blandningen omrördes sedan 30 minuter vid ca. 800 varv/min. Efter filtrering torkades den erhållna produkten under sänkt tryck till konstant vikt.

Den sålunda erhållna produkten isolerades i ett utbyte av 70 % (av det teoretiska).

Karakterisering

- Sfäriska partiklar med en diameter mellan 30 och 40 µm (bestämt med fotografier som tagits med ett svepelektronmikroskop);
- Helt överdragen produkt 2,07 viktprocent (inkapslingens effektivitet: 70 % av den teoretiska). Hatten överdragen förening mätes efter upplösning av mikrokapslarna i metylenklorid, extraktion med en fosfatbuffert (pH 7,4) och titrering med användning av en högtrycksvätskekromatografimetod.

De sålunda erhållna mikrokapslarna kan sedan administreras in vivo, om så önskas efter γ-bestrålning (2 Mrad).

Exempel 3

De i exempel 2 beskrivna operationerna upprepades, men med den skillnaden att 30,4 mg dekaeptid suspenderades i metylenklorid utan att i förväg ha lösts i vatten.

Exempel 4

Operationerna enligt exempel 3 upprepades, men den under härdningssteget använda triklorofluorometanen ersattes med en motsvarande mängd 1,1,2-triklorotrifluoroetan. I det här fallet genomföres operationerna vid 25°C.

De sålunda erhållna mikrokapslarna underkastades ett åldringstest på 12 månader: det visade sig därvid att kinetiken vid dekaeptidfrigöringen in vitro inte modifierades under denna period.

De mikrokapslar som härdats i heptan (referensprover) och underkastats samma test visade å andra sidan en signifikant förändring av sina egenskaper.

Exempel 5

Följande polypeptider mikroinkapslades enligt förfarandet i exempel 3, dvs. utan att först ha lösts i vatten. Liksom i exempel 3 genomfördes härdningssteget vid 15°C och det använda icke-lösningsmedlet var triklorofluorometan:

- Humant kalcitonin
- Somatostatin
- Bovint tillväxthormon.

De erhållna mikrokapslarna är jämförbara med dem som erhålles med dekaeptiden enligt exempel 2 vad beträffar stabilitet och frigöring av den aktiva huvudbeståndscelen (vid mätningar in vitro och in vivo).

462 780

9

PATENTKRAV

1. Metod för mikroinkapsling av läkemedelssubstansar genom fassseparation, vilken innefattar att

- a) en biokompatibel polymer löses i ett med vatten icke blandbart organiskt lösningsmedel;
- b) sedan dispergeras en vattenlösning av de ifrågavarande utvalda läkemedelssubstanserna eller läkemedelssubstansen i torrt tillstånd i den ovannämnda organiska lösningen;
- c) sedan införes en silikonolja under omröring i den enligt förfarandesteg (b) erhållna dispersionen, varvid embryonal- eller råkapslar bildas genom avsättning av den ursprungligen lösta polymeren på den dispergerade läkemedelssubstansen;
- d) den enligt förfarandesteg (c) erhållna blandningen blandas sedan med ett med vatten icke blandbart organiskt lösningsmedel, som icke löser den avsatta polymeren (icke-lösningsmedel), varigenom härdning av mikrokapslarna åstadkommes genom extraktion av det i massan av den avsatta polymeren fortfarande ingående ursprungliga organiska lösningsmedlet;

k ä n n e t e c k n a d därav att man i förfarandesteg (d) som icke-lösningsmedel använder ett alifatiskt fluor- eller flucklorkolväte eller en blandning av fluor- eller fluor-klorkolväten, varvid detta kolväte eller denna kolväteblandning användes i ett överskott av minst 5:1, räknat på volymen av lösningsmedel och icke-lösningsmedel härrörande från förfarandesteg (c), och att förfarandesteget för härdning av mikrokapslarna genomföres vid en temperatur inom intervallet från ca 0°C till 25°C.

2. Metod enligt patentkravet 1, k ä n n e t e c k n a d därav att det fluorerade kolvätet är en fluorhalogenmetan eller en fluorhalogenetan.

3. Metod enligt patentkravet 1 eller 2, k ä n n e t e c k n a d därav att det fluorhalogenerade alifatiska kolvätet

är triklorfluormetan, 1,1,2-triklortrifluoetan eller 1,2-diklortetrafluoetan.

4. Metod enligt något av patentkraven 1 till 3, k ä n n e - t e c k n a d därav att mikrokapslarna är baserade på poly-L-laktid, poly-D,L-laktid eller en sampolymer av D,L-laktid och glykolid.

5. Metod enligt något av patentkraven 1 till 4, k ä n n e - t e c k n a d därav att den vattenlösliga läkemedelssubstansen är en polypeptid.

6. Metod enligt något av patentkraven 1 till 5, k ä n n e - t e c k n a d därav att läkemedelssubstansen är frigöringshormonet för luteiniseringshormonet och för det follikelstimulerande hormonet (LH-RH) eller någon av dess syntetiska analoger, somatostatin eller någon av dess syntetiska analoger, humant eller animaliskt kalcitonin, humant eller animaliskt tillväxthormon, frigöringshormon för tillväxthormonet, en kardiopeptid eller ett naturligt eller rekombinerat interferon.

7. Metod enligt patentkravet 6, k ä n n e t e c k n a d därav att den syntetiska analogen till LH-RH är vald bland följande polypeptider:

(pyro)Glu-His-Trp-Ser-Tyr-D-Trp-Leu-Arg-Pro-Gly-NH₂,
(pyro)Glu-His-Trp-Ser-Tyr-D-Phe-Leu-Arg-Pro-Gly-NH₂,
(pyro)Glu-His-Trp-D-Ser-Tyr-D-Leu-Leu-Arg-Pro-NHR¹ eller
(pyro)Glu-His-Trp-Ser-Tyr-D-Trp-Leu-Arg-Pro-NHR¹
(R¹ = lägre alkyl).

8. Metod enligt något av patentkraven 1 till 6, k ä n n e - t e c k n a d därav att läkemedelssubstansen är en substans med antiinflammatorisk, tumörhämmande, immundepressiv, antitrombotisk, neuroleptisk, antidepressiv eller antihypertensiv effekt, eller ett icke-coxiskt vattenlösligt salt av en sådan substans.

ÅRSavgifter för patent som meddelats på grund av ansökningar som inkommit fr o m 1 oktober 1983

För patent skall erläggas fastställd årsavgift för varje avgiftsår som börjar efter meddelandet. Årsavgiften skall erläggas i förskott för varje avgiftsår. Avgiftsåret börjar fr o m den dag som motsvarar dagen efter löpdagen som vanligtvis är den dag då patentansökningen inkom till patentverket. Om löpdagen är den 5 februari 1985 börjar sålunda första avgiftsåret den 6 februari 1985, andra avgiftsåret den 6 februari 1986 osv.

Avgift måste erläggas utan påminnelse. Inbetalning kan ske antingen på patentverkets kassakontor eller genom posten (postgironummer 1 56 84-4, postadress 102 42 Stockholm) eller genom bankgiro.

Inbetalning genom posten skall anses fullgjord inom föreskriven tid, om inbetalningskort eller postanvisning inlämnats på inrikes postanstalt eller, då inbetalning sker med girokort eller utbetalningskort, beloppet avförts från sändarens postgirokonto inom nämnda tid. Namn och adress på den för vars räkning inbetalningen sker samt tydlig uppgift om patentets nummer skall antecknas på vederbörlig kupong.

Inbetalning genom bankgiro skall anses fullgjord i föreskriven tid, om avsändarens bankgirokonto har belastats med beloppet inom nämnda tid.

Infaller tid, då betalning senast skall ske, på dag då patentverket ej är öppet, får betalning med laga verkan ske nästa dag då patentverket är öppet.

Årsavgiften förfaller till betalning sista dagen i den kalendermånad under vilken avgiftsåret börjar. Årsavgifterna för de två första avgiftsåren förfaller dock först samtidigt med avgiften för det tredje avgiftsåret.

Årsavgift får inte erläggas tidigare än sex månader innan avgiften förfaller till betalning. Årsavgift får med 20 procents förhöjning erläggas inom sex månader efter det avgiften förföll till betalning. Om årsavgift inte erläggs, är patentet förfallet fr o m början av det avgiftsår för vilket avgiften inte erlagts. Det samma gäller om endast en del av avgiften erlagts.

Exempel 1: Om löpdagen är den 13 maj 1985 och patent meddelas den 9 september 86 skall avgifterna för de tre första avgiftsåren erläggas senast den 31 maj 87. Med 20 procents förhöjning kan avgifterna erläggas senast den 30 november 1987.

Exempel 2: Om löpdagen är den 23 januari 1984 och patent meddelas den 8 oktober 1987 så har årsavgifterna för första, andra, tredje och fjärde avgiftsåren erlagts redan under ansökningsstadiet. Årsavgiften för det femte avgiftsåret skall erläggas senast den 31 januari 1988. Med 20 procents förhöjning kan avgiften erläggas senast den 31 juli 1988.

Om betalning av årsavgifter hänvisas till gällande patentförfattningar med övergångsbestämmelser.

Anstånd med betalning då årsavgift förfaller första gången

Än ej beviljad patentet av uppfinnaren och har han avsevärd svårighet att erlägga årsavgift, kan patentverket medge honom anstånd under högst tre år från patentets meddelande, om han gör framställning därom senast den dag då årsavgift första gången förfaller. Vid framställning om sådant anstånd har patenthavaren att lämna fullständiga, behörigen styrkta uppgifter om sina ekonomiska förhållanden.

De gällande årsavgifterna är för närvarande:

1ste	2de	3de	4de	5de	6de	7de	8de	9de	10de	11de	12de	13de	14de	15de	16de	17de	18de	19de	20de	Året
100	1200	1300	1700	1500	1600	1800	1900	2100	2200	2400	2600	2800	3000	3200	3400	3700	3900	4300	4500	kr

B R E V E T S

MARQUE CORRESPONDANTE :

[illegible]

This Page Blank (uspto)